

Universität Zürich  
Zentrum für Zahnmedizin

Klinik für Präventivzahnmedizin, Parodontologie und Kariologie

Direktor: Prof. Dr. med. dent. Thomas Attin

---

Betreuung der Arbeit: Dr. med. dent. Valerie Steiger-Ronay

# **Temperaturabhängigkeit der erosiven Wirkung von Getränken – Eine In-vitro-Untersuchung**

## **INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnmedizin  
an der Medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von  
Andrea Désirée Steingruber

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. med. dent. Thomas Attin

Zürich 2017

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Zusammenfassung</b>	<b>4</b>
<b>2 Einleitung</b>	<b>5</b>
2.1 Definition Erosion	5
2.2 Ursachen von Erosionen	5
2.3 Klinisches Bild	5
2.3.1 Einteilungssysteme	6
2.4 Epidemiologie	7
2.5 Beeinflussende Faktoren	7
2.5.1 Pellikel	8
2.5.2 Vermeidung von Abrasion und Attrition nach Säureeinwirkung	8
2.5.3 Speichel	8
2.5.4 Verhaltensfaktoren	9
2.5.5 Pufferkapazität	9
2.5.6 Temperatur	10
2.6 Gängige Messmethoden	10
2.6.1 Profilometrie	10
2.6.2 Licht-Mikroskop	11
2.6.3 Oberflächen-Härte Messung	11
2.7 Bisherige Studienerkenntnisse zur Erosivität von Getränken	11
<b>3 Material und Methoden</b>	<b>13</b>
3.1 Probenherstellung	13
3.2 Versuchsanordnung	15
3.3 Aufbau künstlicher Mund	16
3.3.1 Superfusionskammern	17
3.3.2 Temperierung der Getränke	17
3.3.3 Vorbereitung der Getränke	18
3.3.4 Herstellung des künstlichen Speichels	19
3.3.5 Pumpen- und Ventilsystem der Getränke	20
3.3.6 Ablauf im künstlichen Mund	20
3.4 Kontaktprofilometer	21
3.5 pH-Messung und Ca-Gehaltbestimmung	22
3.6 Statistische Auswertung	23
<b>4 Ergebnisse</b>	<b>24</b>
4.1 Säuren, pH-Werte und Ca-Gehalt der getesteten Getränke	24
4.2 Zitronensäure	27
4.3 Coca-Cola Zero	28
4.4 Sprite Zero	29
4.5 Orangensaft	30

4.6	Twinnings Früchtetee	31
4.7	Lipton fruit tea Strawberry, Raspberry & Rhubarb	32
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>33</b>
5.1	Diskussion der Methodik	33
5.2	Diskussion der Ergebnisse	35
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>38</b>

# 1 Zusammenfassung

**Ziel der Studie:** Das Ziel dieser In-vitro-Studie war es, den Einfluss der Temperatur auf die erosive Wirkung von verschiedenen Getränken zu bestimmen.

**Methoden:** Es wurden fünf verschiedene Getränke (Coca-Cola Zero, Sprite Zero, Orangensaft und zwei Früchtetees der Firmen Lipton und Twinings) sowie Zitronensäure als Kontrolle, bei verschiedenen Temperaturen (5 °C, 20 °C, 37 °C und 55 °C) untersucht. Es wurden pro Getränk und Temperatur jeweils zwölf Schmelzproben aus Rinderzähnen in Paladur eingebettet und geglättet. Von jeder Probe wurde die Oberfläche jeweils mit einer Anfangsmessung profilometrisch registriert und dann für 60 h in einen sogenannten künstlichen Mund platziert. Im künstlichen Mund lief abwechselnd künstlicher Speichel und temperierte Testflüssigkeit über die Proben. Nach 60-stündigem Aufenthalt im künstlichen Mund wurden auf allen Proben erneut Oberflächenprofile gemessen. Die Differenz zwischen Anfangs- und Endprofil wurde berechnet und ergab den durch Erosion hervorgerufenen Zahnhartsubstanzverlust. Die Ergebnisse wurden mittels ANOVA und paarweise posthoc Vergleiche der Gruppen mit Tukey's Honest Significance Difference Test statistisch untersucht.

**Ergebnisse:** Bei allen untersuchten Getränken konnte mit steigender Temperatur ein leicht erhöhter Zahnhartsubstanzabtrag festgestellt werden. Dieser Temperatureffekt war bei Zitronensäure, Orangensaft sowie bei Coca-Cola Zero jedoch nicht signifikant. Die Erhöhung der Temperatur von 5 °C auf 20 °C bei Sprite Zero führte zu signifikant höherem Substanzabtrag ( $p < 0.001$ ). Bei den untersuchten Teesorten konnte mit der Erhöhung der Temperatur von 20 °C auf 55 °C ebenfalls eine signifikant ( $p < 0.001$ ) erhöhte Erosivität festgestellt werden. Jedoch zeigten beide Teesorten im Vergleich zu den anderen untersuchten Getränken die geringste erosive Wirkung.

**Schlussfolgerungen:** Ein Temperatureffekt auf den Zahnhartsubstanzabtrag liess sich nicht bei allen Getränken im gleichen Ausmass nachweisen. Es zeigte sich aber, dass die Mehrheit der untersuchten Getränke bevorzugt kühl genossen werden sollten.

## **2 Einleitung**

### **2.1 Definition Erosion**

Erosion wird definiert als durch Säureangriffe hervorgerufene Demineralisation und Zahnhartsubstanzverlust (1-3). Anders als bei Karies sind bei der Entstehung von Erosionen keine Mikroorganismen der Mundflora beteiligt (4).

### **2.2 Ursachen von Erosionen**

Es gibt verschiedene Ursachen für Erosionen. Einerseits kann die Säure über Nahrungsmittel wie Zitronen, Orangen, Essig oder auch saure Getränke wie Limonaden oder Fruchtsäfte von aussen (extrinsisch) aufgenommen werden (3). Auch saure Medikamente oder Vitaminbrausetabletten können Erosionen verursachen (5). Andererseits können häufiges Erbrechen oder Reflux als intrinsische Ursachen für Erosionen gezählt werden (3, 6).

### **2.3 Klinisches Bild**

Initiale Erosionen befinden sich koronal von der Schmelz-Zement-Grenze. Meist bleibt auch ein schmaler, intakter Schmelzsaum entlang dem Zahnfleischrand stehen (7). In den Anfangsstadien wird die Oberfläche geglättet und glänzt matt (7). Initiale intrinsische Erosionen werden eher auf den palatinalen und lingualen Zahnflächen vorgefunden (6), während extrinsische Erosionen sich vor allem bukkal und labial manifestieren (1). Bei okklusalen Erosionen werden die Höcker und die Furchen immer mehr abgerundet (7). Oft ist es schwierig Erosionen von Abrasionen oder Attritionen zu unterscheiden. Dies kommt auch daher, dass der Zahnhartsubstanzverlust nach dem Säureangriff sowohl Attritionen als auch Abrasionen begünstigt (8, 9). Bei fortgeschrittenen Erosionen kann Dentin freiliegen und es kann zum totalen Verlust der okklusalen Zahnmorphologie kommen (7).

### 2.3.1 Einteilungssysteme

Der erste Index zur Beschreibung von Erosionen wurde von Eccles beschrieben (10). Dabei werden die Zahnhartsubstanzveränderungen in drei klinische Kategorien unterteilt:

- Klasse 1: oberflächliche Läsionen, treten nur im Schmelz auf.
- Klasse 2: lokalisierte Läsionen mit Dentinbeteiligung. Es liegt weniger Dentin frei als ein Drittel der Gesamterosionsfläche.
- Klasse 3: generalisierte Läsionen. Es liegt mehr Dentin frei, als ein Drittel der Gesamterosionsfläche (1, 10).

Im Laufe der Zeit wurden viele andere Einteilungssysteme erfunden. Allerdings bleibt es bis heute schwierig, den durch Erosionen verursachten Zahnschaden klinisch einzuteilen, da in vivo weitere Faktoren wie Abrasion und Attrition hinzukommen.

Ein weiterer wichtiger Einteilungstyp ist der BEWE-Index (Basic Erosive Wear Examination) (11). Die Zähne werden nach Sextanten beurteilt. Dabei wird jeder Zahn nach dem Grad der Erosion beurteilt und einem definierten Wert zugeordnet. Der Wert 0 wird einem Zahn gegeben, der keinerlei Spuren von Erosionen zeigt. Der Wert 1 beschreibt einen initialen Verlust der Oberflächenbeschaffenheit. Der Wert 2 wird bei einem Zahnhartsubstanzverlust von weniger als 50% vergeben. Sind mehr als 50% der Zahnhartsubstanz von der Oberfläche abgetragen, wird ein Wert von 3 vergeben. In jedem Sextanten wird nur der höchste Wert gezählt. Alle Höchstwerte aus den jeweiligen Sextanten werden summiert und ergeben den BEWE-Index. Diese Summe kann genutzt werden, um das Risikolevel eines Patienten zu eruieren. Ein dem Risikolevel angepasstes Prophylaxe- und Therapie-Management wird empfohlen (11).

## **2.4 Epidemiologie**

In den letzten Jahren wurde vermehrt zum Thema Erosionen geforscht. Der Vergleich von epidemiologischen Studien ist schwierig, da unterschiedliche Einteilungen/Indizes für Erosionen verwendet wurden. Ausserdem, sind die untersuchten Probanden in Bezug auf Alter, Geschlecht und sozioökonomischer Faktoren nicht direkt vergleichbar (12). Es wurde festgestellt, dass die Prävalenz von Erosionen vor allem bei jüngeren Altersgruppen steigt (12). Auch wurde in einer Studie festgestellt, dass Personen, welche schon im Milchgebiss Erosionen aufweisen, ein signifikant höheres Risiko hatten, auch an ihren bleibenden Zähnen erosive Läsionen zu entwickeln (13). Trotz des verstärkten Einsatzes von Fluoriden in den letzten Jahren wurden vermehrt dentale Erosionen vorgefunden (14). Das vermehrte Aufkommen von Erosionen ist vor allem einem neuen Lebensstil und veränderten Nahrungsgewohnheiten zuzuschreiben (12). So werden Zahnärzte in den kommenden Jahren auch im klinischen Alltag vermehrt auf Erosionen treffen. Daher ist ein Forschungsschwerpunkt in diesem Bereich wichtig, nicht nur um Erosionen korrekt behandeln zu können, sondern auch um deren Ursachen und das Zusammenspiel der hierfür relevanten Faktoren zu ergründen, mit dem Fernziel Erosionen möglichst verhindern zu können.

## **2.5 Beeinflussende Faktoren**

Das Auftreten von Erosionen ist sowohl abhängig von der sauren Lösung, als auch von der Zusammensetzung des Zahnhartgewebes und den damit verbundenen Interaktionen (15). Vereinfacht besteht die Zahnhartsubstanz aus kristallisierten Ionen wie  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  und  $\text{OH}^-$ . Wird ein fester Bestandteil in Lösung gebracht, so beginnt ein ständiger Austausch von Ionen zwischen den zwei Phasen. Lösen sich gleich viele Ionen aus dem Zahnhartgewebe und gehen gleich viele Ionen aus der Lösung zur harten Oberfläche, so wird dies «chemisches Gleichgewicht genannt» (15). Das «chemische Gleichgewicht» ist abhängig vom pH-Wert und den Konzentrationen der restlichen Ionen (15).

### **2.5.1 Pellikel**

Um eine Erosion eines Zahnes hervorrufen zu können, muss die saure Lösung direkten Kontakt mit der Zahnoberfläche haben. Dazu muss sie zuerst die Pellikel (Schmelzoberhäutchen) durchdringen (1). Die Pellikel ist ein proteinhaltiger, azellulärer Biofilm, welcher die Zahnoberfläche bedeckt. Sie besteht aus Muzinen, Peptiden und Lipiden, welche hauptsächlich aus dem Speichel stammen (16). Die Pellikel stellt für die Zahnoberfläche eine Art Schutzbarriere vor angreifenden Säure-Ionen dar (17, 18). Sind die  $H^+$ -Ionen einmal durch die Barriere hindurch an die Schmelzoberfläche gelangt, können sie Kalzium- und Phosphat-Ionen aus dem Schmelz herauslösen (1). Dabei wurde festgestellt, dass die Konzentration der undissoziierten Säuren eine wichtige Rolle spielt, da diese scheinbar schneller durch die Schmelzporen hindurchdiffundieren können als ungeladene Moleküle (15, 19). Durch das Herauslösen der Mineralien wird nicht nur die oberste Schmelzschicht aufgeweicht, sondern auch tiefer liegende Regionen (20). Die gelösten Kalzium- und Phosphat-Ionen erhöhen nun den pH-Wert an der Schmelzoberfläche (21). Diese dünne Schicht mit dem erhöhten pH-Wert kann das weitere Entkalken des Schmelzes verlangsamen. Wird diese Schicht allerdings wieder mit neuer Säure weggeschwemmt, stoppt der Prozess der Demineralisation nicht (22).

### **2.5.2 Vermeidung von Abrasion und Attrition nach Säureeinwirkung**

Ist der Schmelz einmal durch die Säureeinwirkung aufgeweicht, ist er anfälliger für den Hartsubstanzabtrag durch Abrasion, beispielsweise durch eine Zahnbürste (23, 24). So sollten Zähne bei Säurekontakt nicht danach geputzt werden. Es wurde festgestellt, dass wenn erst nach einer Latenzzeit von 60 Minuten und mehr nach Säureaufnahme zur Zahnbürste gegriffen wird, geringfügig weniger Zahnhartsubstanz abgetragen wird als nach direkter Säureeinwirkung (25, 26). Dies hängt zusammen mit dem Speichel, einem wichtigen Faktor, der Erosionen entgegenwirkt.

### **2.5.3 Speichel**

Die Speichelfliessrate wird schon vor dem eigentlichen Säureangriff durch den Geruch oder das Sehen der Nahrung erhöht. Säure erhöht den Speichelfluss massgeblich (27). Speichel hilft indem er zum einen die Säure verdünnt, neutralisiert und puffert. Er hilft aber auch die Pellikel herzustellen und stellt Kalzium, Phosphat und Fluoride zur



Remineralisation bereit (28). Hilfreich im Kampf gegen Erosionen ist das Spülen nach Säureeinwirkung mit Wasser oder noch besser mit einer Mundspüllösung. Das Spülen erhöht den pH-Wert im Speichel und neutralisiert so die angreifenden Säuren (29).

#### **2.5.4 Verhaltensfaktoren**

Ein wichtiger Faktor ist nicht nur die Häufigkeit, sondern auch die Art der Säureaufnahme. So spielt es beispielsweise eine Rolle ob man ein Getränk schnell, also in grossen Schlucken trinkt, oder ob man immer wieder über einen längeren Zeitraum in kleinen Schlückchen zu sich nimmt (30). Durch das richtige Benutzen eines Strohhalms wird das erosive Potential eines Getränks sogar vermindert (31, 32). Richtig heisst in diesem Fall das Strohhalmende hinter den Frontzähnen zu positionieren (32). In einer norwegischen Studie wurden Jugendliche zu ihrem Konsumverhalten von Süssgetränken und Fruchtsäften befragt. In dieser Studie wurde festgestellt, dass die meisten Jugendlichen nur wenig bis gar nichts über dentale Erosionen wussten (33). Es ist daher ungemein wichtig, schon früh über die Risiken eines erhöhten Konsums von säurehaltigen Nahrungsmitteln und Getränken zu informieren und Möglichkeiten zur Vermeidung von Erosionen aufzuzeigen.

#### **2.5.5 Pufferkapazität**

Im Hinblick auf die Entstehung von Erosionen spielt es nicht nur eine Rolle welchen pH-Wert ein Getränk oder ein Nahrungsmittel hat, vielmehr ist ein komplexes Zusammenspiel aus verschiedenen Faktoren wie zum Beispiel der Pufferkapazität, der Art der Säure sowie die initiale Protonenaktivität dafür verantwortlich (19). Daher ist es schwierig mit nur einem dieser Faktoren das Ausmass der Erosion vorauszusagen (34). Je grösser die Pufferkapazität, desto länger dauert es, bis die Säure vom Speichel neutralisiert werden kann (35). Für die Entstehung einer Karies wurde ein kritischer pH-Wert von 5.5 - 5.7 festgelegt. Dieser pH-Wert ist abhängig von der Kalzium- und Phosphatkonzentration in der Plaque (36). Bei der Entstehung einer Erosion ist der kritische pH-Wert abhängig von der Kalzium- und Phosphatkonzentration der erosiven Lösung selbst und variiert daher sehr stark (36).

### **2.5.6 Temperatur**

Es gibt verschiedene Faktoren, die Erosionen begünstigen oder teilweise verhindern. Der Einfluss der Temperatur auf die Erosivität eines Getränkes wurde noch kaum untersucht. Nachdem die meisten chemischen Reaktionen durch die Temperatur beeinflusst werden, liegt die Hypothese nahe, dass beim Konsum von höhertemperierten erosiven Nahrungsmitteln auch ein gesteigerter Schmelzabtrag stattfindet. Diese Vermutung wurde auch in Studien von Eisenburger (32) und Barbour bestätigt (37). In ihren Untersuchungen wurden nur wenige Getränke getestet und meistens wurden die Proben für eine bestimmte Zeit in der zu untersuchenden Flüssigkeit gebadet. Dieses Vorgehen entspricht jedoch nicht der Situation in vivo, bei welcher Zähne immer wieder durch Speichelkontakt remineralisiert werden.

## **2.6 Gängige Messmethoden**

### **2.6.1 Profilometrie**

In der vorliegenden Studie wurde das Ausmass der Erosion mittels Kontakt-Profilometrie überprüft. Dabei läuft ein Stift mit einer Diamantspitze mehrmals über die Probe und registriert die Oberflächenkontur. Nach dem Versuch wird die Probe erneut mit dem Profilometer vermessen. Über die Differenz der Anfangs- und Endmessung kann der Substanzverlust durch Erosion ermittelt werden. Dies ist ein gängiges Verfahren, welches auch in zahlreichen anderen Studien verwendet wurde (38, 39). Eine Einschränkung der Methode besteht in der Gefahr, dass die durch Erosion erweichten Probenoberflächen durch das Aufsetzen des Stiftes beschädigt werden und es so zu verfälschten Messergebnissen kommt (37). Das gleiche Prinzip wird auch bei der Laser-Profilometrie verwendet, anstatt eines Stiftes wird die Oberfläche mit Hilfe eines Lasers gescannt (40). Die Laser-Profilometrie bietet zwar je nach Gerät eine etwas höhere Auflösung als die Kontakt-Profilometrie, allerdings kann es beim Laser-Profilometer an scharfen Kanten und Übergängen schneller zu Artefakten kommen (40, 41).

### **2.6.2 Licht-Mikroskop**

Hierbei wird mit einem Licht-Mikroskop die Referenzhöhe auf einer nicht erodierten Fläche der Probe festgelegt. Von dieser Referenzhöhe wird nun in 1.5 mm Abständen auf die erodierte Fläche in 100  $\mu\text{m}$  Schritten fokussiert. Die Genauigkeit des Messverfahrens ist abhängig von der Fokustiefe der verwendeten Objektivlinse (40).

### **2.6.3 Oberflächen-Härte Messung**

Bei einer Erosion wird die Oberfläche leicht aufgelöst, was in einer Aufweichung der Proben-Oberfläche resultiert. Diese Aufweichung kann mit einem Indenter-Verfahren registriert werden. Dabei wird ein Diamant mit einem genormten Anschliff in die plane Oberfläche gedrückt, welcher einen Abdruck hinterlässt. Dieser Abdruck fällt je nach Oberflächenhärte länger oder kürzer aus. Je weicher die Oberfläche ist, desto länger wird der bleibende Abdruck. Da der Stempel für eine bestimmte Zeit mit einem bestimmten Druck auf die Oberfläche gedrückt wird, kann nun anhand der Länge des Abdrucks die Härte berechnet werden. Meistens wird die Knoop-Härte oder die Vickers-Härte bestimmt (40).

## **2.7 Bisherige Studienerkenntnisse zur Erosivität von Getränken**

Es wurden schon einige Studien zur Erosivität von Getränken durchgeführt. Ein wesentlicher Faktor ist in diesem Zusammenhang der pH-Wert des Getränkes. Dieser muss unter einem Wert von 5 - 5.5 liegen, um eine Zahnschmelz-Erosion hervorrufen zu können. Es wurde aber auch festgestellt, dass nicht nur der pH-Wert eine wichtige Rolle für die Erosivität eines Getränkes spielt, sondern auch andere Faktoren wie die Kalziumkonzentration oder die Art der im Getränk vorhandenen Säure (36, 42, 43). So kann zum Beispiel ein erhöhter Kalziumgehalt die Löslichkeit der Zahnhartsubstanz trotz tiefem pH-Wert des Getränks vermindern (44). Die Art der Säure ist für das Ausmass der Erosion ebenfalls von Belang. So wurde festgestellt, dass Phosphorsäure ein besonders hohes erosives Potential aufweist (45).

Die titrierbare Säure, welche in direkter Relation mit der Konzentration von undissoziierter Säure steht, ist ebenfalls ein wichtiger Faktor. Je mehr titrierbare Säure in einem Getränk vorhanden ist, desto erosiver ist es (15, 19, 46). Auch die Pufferkapazität ist ein in diesem

Zusammenhang wichtiger Faktor. Je grösser die Pufferkapazität, desto länger dauert es bis der Speichel die Säure neutralisiert hat (35). Jedoch kann mit nur einem dieser Faktoren das Ausmass einer Erosion nicht vorausgesagt werden, da ein komplexes Zusammenspiel aus sämtlichen Faktoren besteht (34).

Da die Temperatur auf die Erosivität verschiedener Getränke einen Einfluss zu haben scheint (37, 45), und erosive Getränke, wie zum Beispiel Früchtetees oder Zitruslimonaden, zum Teil bei sehr hohen Temperaturen getrunken werden, war es das Ziel dieser Studie zu untersuchen, wie stark eine Temperaturerhöhung den Zahnhartsubstanzauftrag beeinflusst. Der Faktor Temperatur sollte in einem möglichst lebensnahen Modell überprüft werden, bei welchem Getränke in simulierten Schlucken auf mundhöhlen-temperierte Schmelzproben appliziert und die so erodierten Proben immer wieder mit Speichel remineralisiert werden.

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Probenherstellung**

Zur Probenherstellung mussten als erstes Zähne aus frischen Rinderkiefen extrahiert werden. Anschliessend wurden die Zähne mit einem Skalpell gereinigt, die Wurzeln mit einer diamantierten Trennscheibe maschinell von den Kronen getrennt und die Pulpen mit endodontologischen Instrumenten entfernt. Schlussendlich wurde mit einem Hohlbohrer eine Hilfsbohrung am unteren Wurzelanteil angebracht, damit der Zahn beim Herausbohren der Schmelzproben mit einer Schraubzwinde befestigt werden konnte und nicht verrutschte.

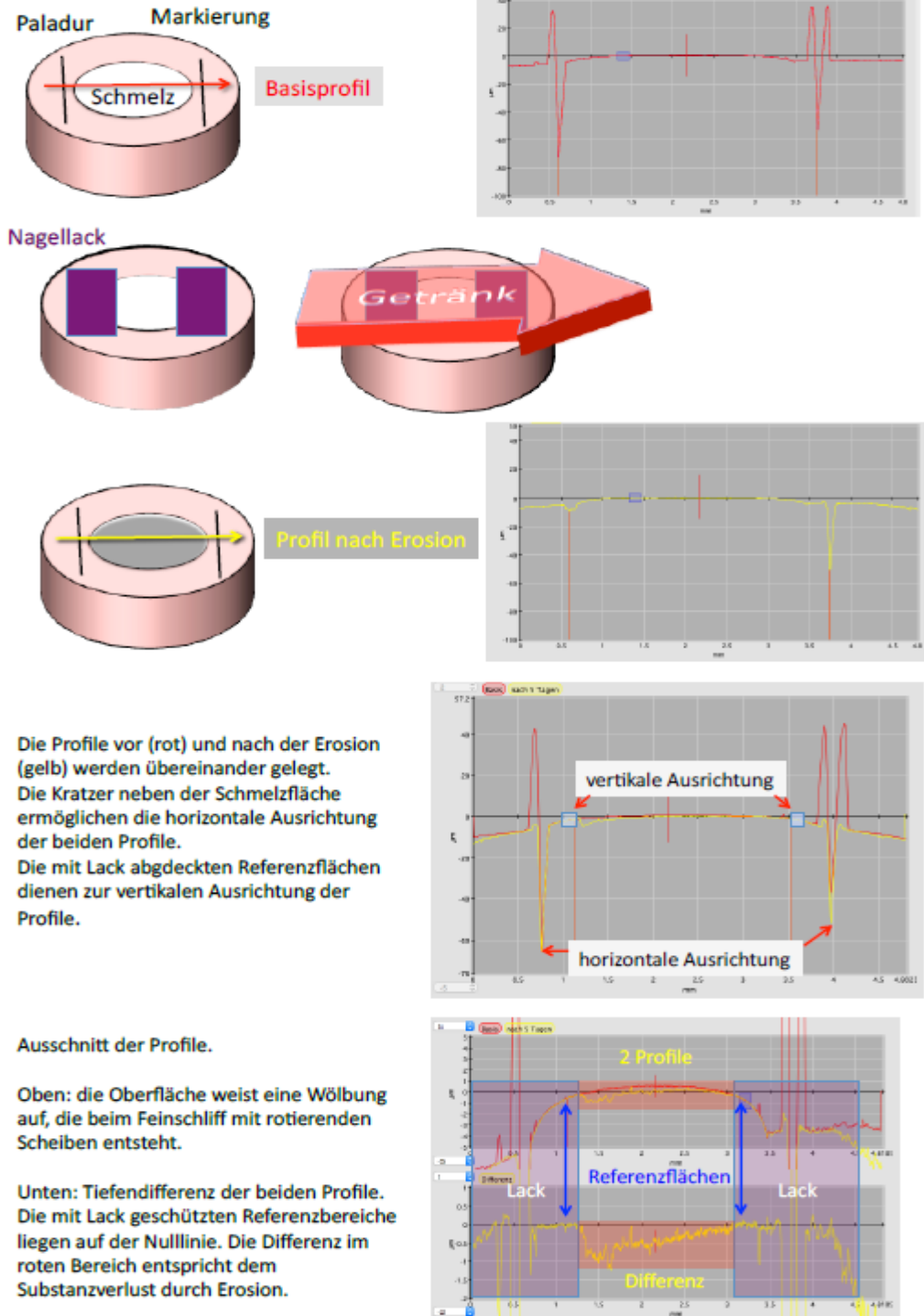
Aus den Rinderzähnen wurden mit Hilfe eines diamantierten Hohlbohrers (Eigenkonstruktion, PPK Zürich, Schweiz) Schmelzproben gebohrt. Der Durchmesser der runden Schmelzproben betrug 3 mm. Diese ausgebohrten Proben wurden anschliessend, mit der Schmelzschicht nach unten, in eine Silikon-Formhilfe in Paladur (Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland) eingebettet. Überschüssige Paladur-Ränder wurden weggefräst. Um eine möglichst glatte und einheitliche Schmelzoberfläche zu erhalten, wurden die Proben mittels einer Schleifmaschine Struers Tegramin-30 (Struers, Willich, Deutschland) mit folgenden Schleifpapieren bei 5 N und 150 U/min bearbeitet:

1. Struers Waterproof SiC Foil FEPA P #1000 für 10 s
2. Struers Waterproof SiC Foil FEPA P #2000 für 50 s
3. Struers Waterproof SiC Foil FEPA P #4000 für 1 min

Die fertigen bovinen Probenkörper hatten einen Gesamtdurchmesser von 6 mm (inklusive Paladur) und eine Höhe von 3 mm.

# Schematischer Ablauf der profilometrischen Messung

(©Klaus Becker, Forschungslabor PPK, ZZM Universität Zürich)



**Abbildung 1:** Schematischer Ablauf der profilometrischen Messung

### 3.2 Versuchsanordnung

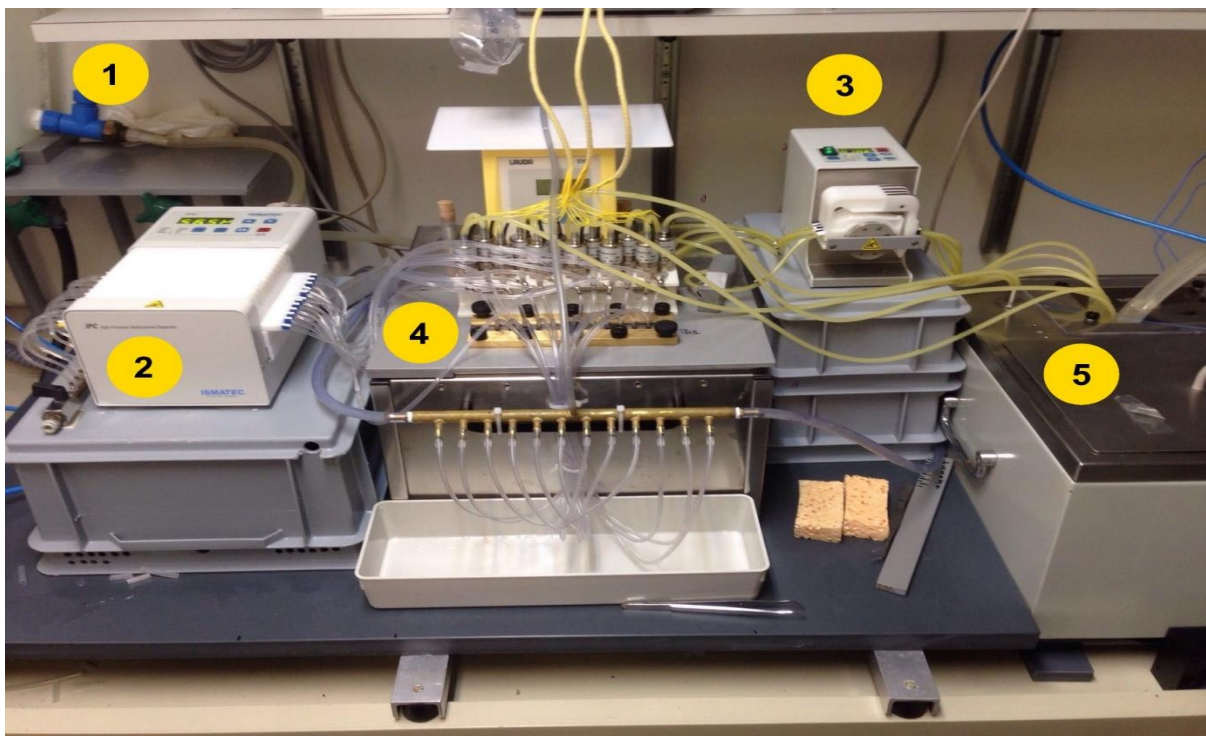
Es wurden 5 Flüssigkeiten mit unterschiedlichem erosivem Potential bei verschiedenen Temperaturen untersucht: Coca-Cola Zero (Coca-Cola HBC Schweiz AG, Brüttisellen, Schweiz), Sprite Zero (Coca-Cola HBC Schweiz AG, Brüttisellen, Schweiz), Granini Orangensaft (Eckes-Granini Suisse SA, Henniez, Schweiz), Twinings Früchtetee (Wander AG, Neuenegg, Schweiz) und Lipton fruit tea Strawberry, Raspberry & Rhubarb (Unilever Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland). Als Kontrolle wurde in diesem Versuch Zitronensäure verwendet. Tabelle 1 stellt eine Übersicht der verwendeten Flüssigkeiten und getesteten Temperaturen dar. Pro Flüssigkeit und Temperatur wurden jeweils 12 bovine Schmelzproben verwendet. Dies ergab insgesamt 192 Schmelzproben, welche auf 16 Gruppen à jeweils 12 Proben aufgeteilt wurden.

	5 °C	20 °C	37 °C	55 °C
<b>Zitronensäure</b>	X	X	X	X
<b>Coca-Cola Zero</b>	X	X		
<b>Sprite Zero</b>	X	X		
<b>Granini Orangensaft</b>	X	X		
<b>Twinings</b>		X	X	X
<b>Lipton</b>		X	X	X

**Tabelle 1:** Übersicht der untersuchten Flüssigkeiten und den jeweils getesteten Temperaturen. Bei den mit X gekennzeichneten Feldern wurde jeweils ein Versuchsdurchgang mit jeweils 12 Schmelzproben durchgeführt.

### 3.3 Aufbau künstlicher Mund

Der sogenannte «künstliche Mund» ist eine Eigenkonstruktion des PPK-Labors der Universität Zürich. Er besteht im wesentlichen aus zwei Pumpen der Marke Ismatec (Cole-Parmer GmbH, Wertheim, Deutschland). Eine Pumpe A wurde programmiert, um den künstlich hergestellten Speichel (Zusammensetzung siehe 3.3.4 Herstellung des künstlichen Speichels) über die auf 37 °C temperierten zwölf Proben zu befördern. Mittels Umwälzthermostat JULABO F25 (JULABO GmbH, Seelbach, Deutschland) wurde Wasser auf die geforderte Temperatur erhitzt oder abgekühlt, und über ein geschlossenes Schlauchsystem in ein isoliertes Behältnis befördert. Die zu untersuchende Flüssigkeit, welche während dem Versuch in dem isolierten Behältnis gelagert wurde, konnte so auf die gewünschte Temperatur gebracht werden. Die zweite Pumpe B beförderte die entsprechend temperierten Testflüssigkeiten auf die Proben.



**Abbildung 2:** Aufbau des künstlichen Munds

Legende: 1. Vorratsgefäß für den künstlichen Speichel; 2. Pumpe A befördert den künstlichen Speichel zu den Proben; 3. Pumpe B befördert die temperierten Getränke zu den Proben; 4. Superfusionskammer; 5. Isolierter Edelstahlbehälter für die temperierten Getränke



### **3.3.1 Superfusionskammern**

Die Superfusionskammern befanden sich in einem Edelstahl-Block auf einem Thermostaten. In diesem Block waren 12 Bohrungen für die Aufnahme der Proben angebracht. Die Kammern über den Proben waren in eine Polycarbonat-Platte gefräst und waren 1.3 mm hoch, 3 mm breit und 10 mm lang. Am Eingang der Kammer war direkt vor der Probe ein Edelstahlröhrchen angebracht. Zu diesem Röhrchen führte ein Schlauch mit einem T-Verbindungsstück, dessen Enden an der Zufuhr des künstlichen Speichels und der Getränke angeschlossen war. Am Ende der Superfusionskammer war ein Schlauch zum Abfluss aller Lösungen angebracht. Das auf 37 °C temperierte warme Wasser wurde mittels der Umwälzpumpe durch die Unterseite des Blocks gepumpt, um die Proben auf diese Weise auf Körpertemperatur zu halten.

### **3.3.2 Temperierung der Getränke**

In einem Umwälzthermostat (JULABO GmbH, Seelbach, Deutschland) wurden ca. 10 l Wasser konstant bei der gewünschten Temperatur gehalten. Die Test-Getränke befanden sich in einem isolierten Edelstahlbehälter, an dessen Boden ein spiralförmiges Rohrsystem (Silikonschlauch und Edelstahl) angebracht war. Durch diese Rohre wurde das temperierte Wasser von der Umwälzpumpe mit grosser Geschwindigkeit gepumpt. Die Test-Getränke wurden über das temperierte Rohrsystem auf die geforderte Temperatur gebracht. Wenn die Temperatur der Test-Getränke der des Wasserbades entsprach, blieb diese Temperatur während des gesamten Versuchs stabil. Die Temperatur wurde automatisch durch den Kälte-Umwälzthermostat gemessen.

### **3.3.3 Vorbereitung der Getränke**

Um die Kohlensäure aus den Coca-Cola Zero und Sprite Zero Flaschen zu entfernen, wurden diese stark geschüttelt. Die Getränke wurden zusätzlich für zehn Minuten mit einem Magnetrührgerät behandelt.

Beide Teesorten wurden gemäss Packungsangaben zubereitet. Pro 200 ml wurde ein Teebeutel mit sprudelnd kochendem Wasser übergossen und für fünf Minuten ziehen gelassen.

Der Orangensaft wurde mittels einer Zentrifuge (Modell Z320, Hermle, Gosheim, Deutschland) für drei Minuten zentrifugiert um grössere Schwebeteilchen aus dem Orangensaft zu entfernen, welche die Schläuche des künstlichen Mundes verstopfen hätten können.

### 3.3.4 Herstellung des künstlichen Speichels

Der künstliche Speichel wurde jeweils gemäss Tabelle 2 frisch hergestellt. Der künstliche Speichel wurde in einem 10-Liter-Vorratsgefäss gelagert und mit Hilfe der 12-Kanal-Peristaltikpumpe (IPC, Ismatec, Cole-Parmer GmbH, Wertheim, Deutschland) für jede Probe separat an den T-Schlauchverbinder gepumpt. Die Fliessgeschwindigkeit und Dauer des Speichelflusses wurde über eine im Labor der Klinik für Präventivzahnmedizin, Parodontologie und Kariologie entwickelte Software gesteuert.

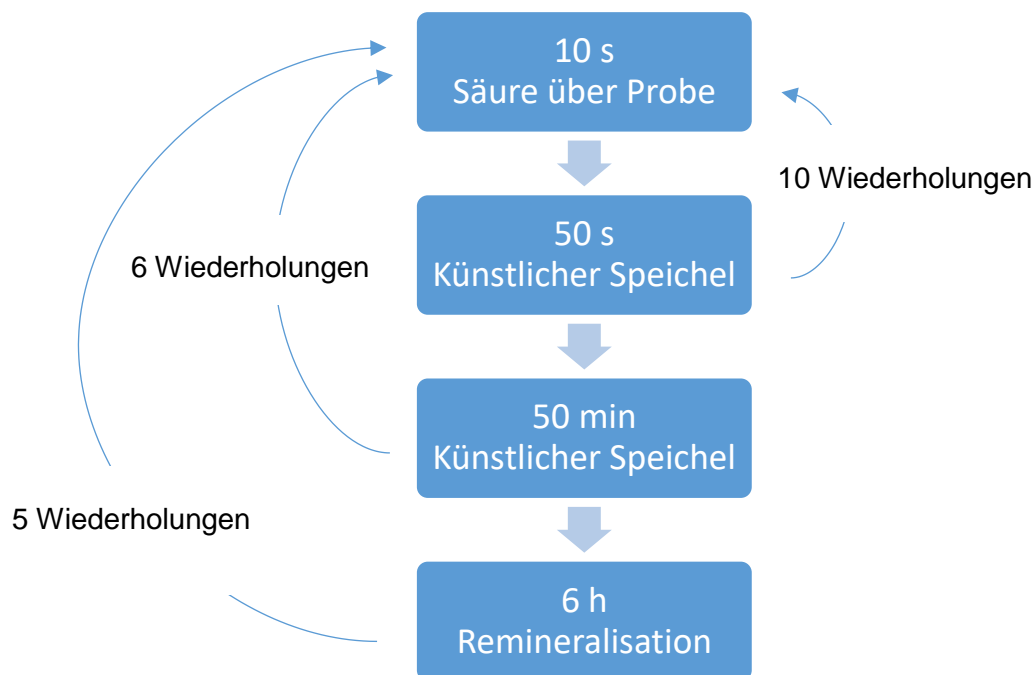
4 Liter	Dest. Wasser
2.320 g	NaCl
0.900 g	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O
0.640 g	NH <sub>4</sub> Cl
5.080 g	KCl
0.640 g	NaSCN
1.320 g	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
0.800 g	Harnstoff
1.360 g	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>

**Tabelle 2:** Zusammensetzung des künstlichen Speichels

### 3.3.5 Pumpen- und Ventilsystem der Getränke

Während des gesamten Versuchs wurde das jeweilige Getränk auf der Soll-Temperatur gehalten. Um möglichst wenig Temperaturverlust auf dem Weg vom Vorratsbehälter zur Probe zu generieren, wurde die Testflüssigkeit permanent durch die Schläuche und das zu den Proben führende Ventilsystem gepumpt. So wurde gewährleistet, dass das Getränk dicht vor der Probe mit der gewünschten Temperatur zirkulierte. Für die Dauer der Erosion wurde per Software die Pumpe des künstlichen Speichels gestoppt und das Ventil Richtung Probe geöffnet. So konnte die Säure über den T-Schlauchverbinder über die Probe fließen.

### 3.3.6 Ablauf im künstlichen Mund



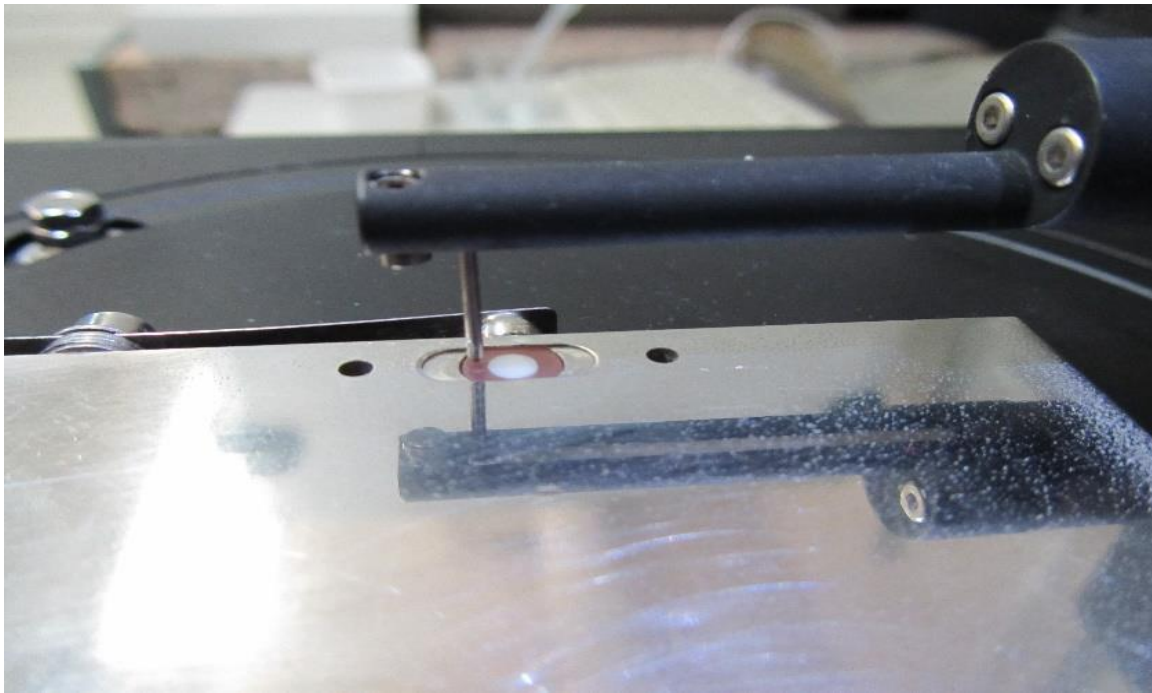
**Abbildung 3:** Schema des Erosions-/Remineralisationszyklus

Der Zufluss von Speichel und Säure wurde über ein programmiertes Ventilsystem gesteuert. Die 12 Proben, welche pro Durchlauf benutzt wurden, befanden sich für insgesamt 60 h im künstlichen Mund. Dies würde 5 d mit einer jeweiligen Dauer von 12 h entsprechen. Es wurde simuliert, dass pro Stunde ein Getränk (Säure) in 10 «Schlucken» eingenommen wird. Bei einem Durchgang wurden 580 µl Säure für 10 s über die Proben gelassen, danach wurde für 50 s mit künstlichem Speichel

remineralisiert. Dieser Vorgang wurde 10 Mal wiederholt. Für die restlichen 50 min wurde künstlicher Speichel über die Proben gelassen. Es wurden 6 Wiederholungen in 6 h vorgenommen. Danach kam eine Remineralisationsphase für 6 h, in der nur künstlicher Speichel über die Proben floss. Die Proben waren dabei immer auf 37 °C temperiert, um die im Mund herrschende Körpertemperatur zu simulieren.

### **3.4 Kontaktprofilometer**

Die Proben wurden initial für die Basismessung (Anfangsmessung) und nach Abschluss der Versuche (Endmessung) mit dem Kontaktprofilometer (MarSurf GD 25, Mahr, Göttingen, Deutschland) vermessen. Dabei fährt das Profilometer mit einer Spitze über die gesamte Schmelzprobe und tastet die Oberfläche ab. Die Kontur wird registriert und so das Oberflächenprofil dargestellt. Vor der Basismessung wurde auf jeder Seite neben der Schmelzfläche eine Einkerbung angebracht, um bei der Messung des Profils einen klaren Anfangs- und Endpunkt zu erhalten. Nach der Basismessung wurden die äussersten 0.5 mm Schmelz mit einem Nagellack (Superstay Forever Strong 7 Days, Maybelline, New York, USA) abgedeckt, um nach Erosion einen nicht erodierten Kontrollbereich zu erhalten, welcher zur Überlagerung der Profile verwendet werden konnte. Pro Messung wurden fünf Profile im Abstand von je 250 µm auf der gleichen Probe aufgenommen. Nach Durchführung der Basismessung wurden die Proben für 60 Stunden in den künstlichen Mund gelegt, wo sie abwechselnd mit künstlichem Speichel und verschiedenen Test-Flüssigkeiten überströmt wurden. Der gesamte Aufbau und Ablauf des künstlichen Mundes wird unter Punkt 3.3 (Aufbau künstlicher Mund) und folgenden genauer erläutert. Nach Abschluss der Versuche im künstlichen Mund wurde der Nagellack mit einem Skalpell entfernt und das erodierte Oberflächenprofil an den exakten Positionen der Basismessung mit dem Kontaktprofilometer ein zweites Mal (Endmessung) vermessen. Die Höhendifferenz zwischen den Profilen der Anfangs- und Endmessung wurde berechnet, um den durch Erosion verursachten Schmelzverlust zu bestimmen.



**Abbildung 4:** Messarm mit Messspitze des Kontaktprofilometers beim Abtasten der Oberfläche einer Schmelzprobe

### 3.5 pH-Messung und Ca-Gehaltsbestimmung

Der pH-Wert der Getränke wurde in einer Einfach-Messung bei allen zu untersuchenden Temperaturen mit einem pH-Messgerät (827 pH lab, Metrohm Schweiz AG, Herisau, Schweiz) aufgenommen. Eine Übersicht der ermittelten pH-Werte wird in Tabelle 3 angegeben. Ausserdem wurden alle Getränke bei Zimmertemperatur mit 0,1 M NaOH Lauge in 10 ml oder 50 ml Schritten titriert (686 Titroprocessor und 665 Dosimat, Metrohm Schweiz AG, Herisau, Schweiz). Unter dem Begriff titrierbare Säure versteht man die Gesamtmenge an dissoziierbaren  $H^+$ -Ionen bis zu einem bestimmten pH-Wert (47). Die berechneten titrierbaren Säuren wurden in einer einfachen Messung festgestellt und sind in Tabelle 4 dargestellt.

Um genauere Aussagen über die Erosivität der untersuchten Flüssigkeiten machen zu können, wurde deren Ca-Gehalt mittels Flammen-Absorptionsspektroskopie (contrAA 300, Analytik Jena AG, Jena, Deutschland) bestimmt. Bei der Absorptionsspektroskopie wird die zu untersuchende Flüssigkeit mittels einer Flamme (Stickstoffoxid-Acetylen-Flamme) verdampft. Bei diesem Vorgang zerfallen die enthaltenen Moleküle in Atome, welche bei einer bestimmten Wellenlänge Licht absorbieren. Kalzium hat ein Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von 422 nm

(48). Je mehr Kalzium sich in einer Probe befindet, desto mehr Licht dieser definierten Wellenlänge wird absorbiert.

### **3.6 Statistische Auswertung**

Für die deskriptive Statistik wurden die Mittelwerte und die Standardabweichungen des Substanzabtrages für alle Getränke bei den getesteten Temperaturen errechnet. Unterschiede des Substanzabtrags in Abhängigkeit von der Temperatur innerhalb der einzelnen Getränke wurden mittels ANOVA auf statistische Signifikanz geprüft. Unterschiede mit einem p-Wert von  $< 0.001$  wurden als statistisch signifikant gewertet. Die paarweise posthoc Vergleiche innerhalb der Gruppen wurden mit Tukey's Honest Significance Difference Test berechnet. Es wurde das Statistik Programm R verwendet (49).

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Säuren, pH-Werte und Ca-Gehalt der getesteten Getränke

Die titrierbare Säure der untersuchten Getränke bei den pH-Werten 5.5 und 7, sowie die initial freien Protonen in mmol/L und die %-undissoziierter Säure beim pH-Wert 5 werden in Tabelle 3 beschrieben. Tabelle 4 zeigt die pH-Werte aller untersuchten Flüssigkeiten bei 5 °C, 20 °C, 37 °C und bei 55 °C. Des Weiteren sind die im Flammen-Absorptionsspektrometer gemessenen Ca-Werte bei 20 °C aufgelistet. Bei allen gemessenen Temperaturen wurde keine grosse pH-Wert-Änderung festgestellt. Das Zentrifugieren des Orangensafts vor der Messung hatte keine Auswirkung auf die beschriebenen Werte. Allerdings konnte mit steigendem Kalziumgehalt ein geringerer Zahnschmelzverlust durch Erosion beobachtet werden.

	Hauptsäure	Titrierbare Säure Bei pH 5.5 [mmol/L]	Titrierbare Säure Bei pH 7 [mmol/L]	Initial freie Protonen Protonenaktivität [mmol/L]	% dissoziierte Säure Bei pH 5.5	% undissoziierte Säure Bei pH 5.5
Zitronensäure	ZS	15.1	20.7	2.0	13.2	86.8
Coca-Cola Zero	PS	8.0	22.3	1.7	21.7	78.3
Sprite Zero	ZS	31.3	50.9	1.0	3.1	96.9
Orangensaft	ZS	80.0	109.8	0.1	0.2	99.8
Twinnings	ZS/ AS	8.4	9.6	0.6	6.9	93.1
Lipton	ZS/AS/OS	8.7	10.2	0.5	5.6	94.4

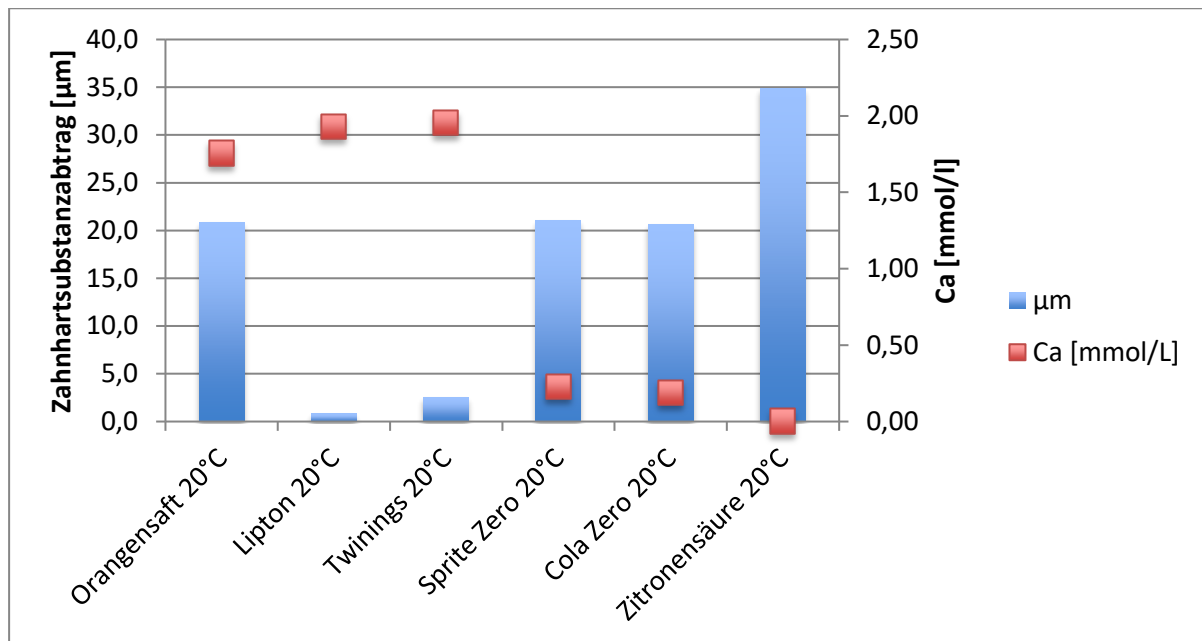
**Tabelle 3:** Aufstellung der hauptsächlich verantwortlichen Säuren der untersuchten Flüssigkeiten. Ebenfalls sind die gemessenen Werte der Titration bei den pH-Werten 5.5 und 7 aufgeführt, sowie die initial freien Protonen [mmol/l] und die undissoziierte Säure als % der titrierbaren Säure bei pH 5.5, die durch Einfachmessungen festgestellt wurden.

Abkürzungen: ZS: Zitronensäure; PS: Phosphorsäure; AS: Apfelsäure; OS: Oxalsäure



	5 °C [pH]	20 °C [pH]	37 °C [pH]	55 °C [pH]	Ca- Gehalt bei 20 °C [mmol/L]	Abgetragene Zahnhartsubst. bei 20 °C MW ± SD [µm]
Zitronensäure	2.68	2.70	2.76	2.68	0.00	34.91 ± 5.39
Coca-Cola Zero	2.73	2.76	2.76	2.78	0.19	20.60 ± 7.27
Sprite Zero	3.08	3.01	3.00	2.98	0.23	21.05 ± 2.91
O-Saft	3.9	3.88	3.85	3.84	1.75	20.88 ± 5.49
O-Saft zentrifugiert	3.9	3.89	3.84	3.83	1.75	20.90 ± 5.50
Twinnings	3.24	3.24	3.24	3.25	1.95	2.44 ± 0.69
Lipton	3.34	3.31	3.32	3.33	1.93	0.83 ± 0.66

**Tabelle 4:** Aufstellung des einfach gemessenen pH-Werts aller untersuchten Flüssigkeiten bei 5 °C, 20 °C, 37 °C und bei 55 °C, sowie des gemessenen Ca-Gehalts [mmol/l] und der abgetragenen Zahnhartsubstanz [µm]. Die pH-Werte und der Ca-Gehalt wurden durch Einfachmessungen festgestellt. Es sind des Weiteren die Mittelwerte (MW) ± Standardabweichungen (SD) bei n = 12 der abgetragenen Zahnhartsubstanz aufgeführt.



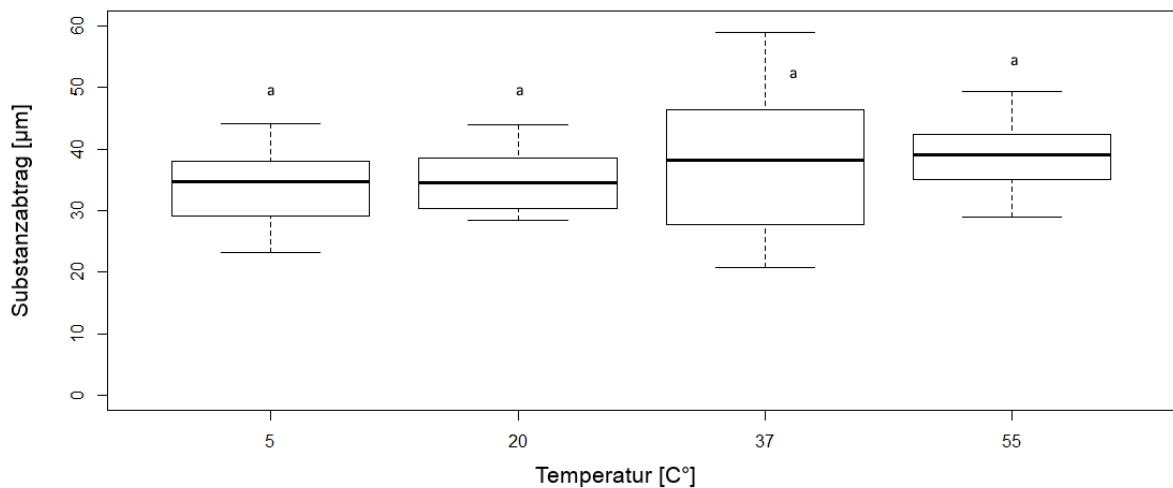
**Abbildung 5:** Ca-Gehalt [mmol/l] und mittlerer Zahnhartsubstanzabtrag [ $\mu\text{m}$ ] der untersuchten Getränke bei 20 °C.

Zahnhartsubstanzabtrag [ $\mu\text{m}$ ]				
	5 °C	20 °C	37 °C	55 °C
Zitronensäure	33.62 ± 6.25	34.91 ± 5.39	37.81 ± 10.73	38.68 ± 5.61
Coca-Cola Zero	17.88 ± 2.63	20.60 ± 7.27	-	-
Sprite Zero	12.88 ± 4.09	21.05 ± 2.91	-	-
Orangensaft	23.70 ± 8.36	20.88 ± 5.49	-	-
Twinings	-	2.44 ± 0.69	5.96 ± 1.06	5.08 ± 1.38
Lipton	-	0.83 ± 0.66	1.38 ± 0.42	2.93 ± 1.14

**Tabelle 5:** Auflistung der Mittelwerte ± Standardabweichungen des gemessenen Zahnhartsubstanzabtrags [ $\mu\text{m}$ ] bei den jeweiligen Temperaturen. Bei den mit "-" gekennzeichneten Felder wurden keine Messungen durchgeführt.

## 4.2 Zitronensäure

Es konnte eine minimale Steigerung des Substanzabtrages durch Zitronensäure bei immer höheren Temperaturen ausgemacht werden. Jedoch war dieser Temperatureffekt als nicht signifikant einzustufen ( $p = 0.341$ , ANOVA).

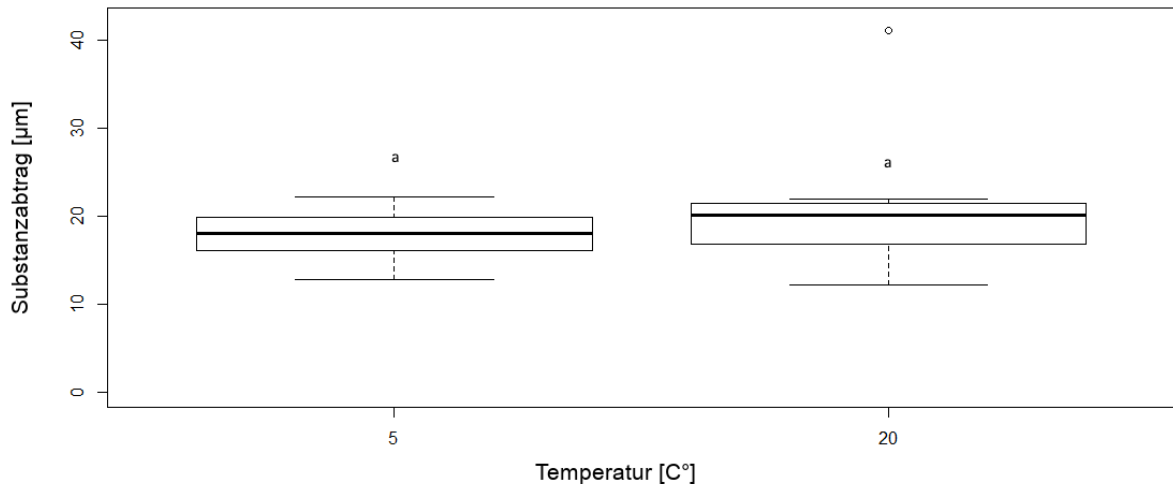


**Abbildung 6:** Temperaturabhängige Erosion bei Zitronensäure. Boxplotdarstellung des durch Zitronensäure hervorgerufenen Zahnhartsubstanzverlusts [µm] bei den getesteten Temperaturen [°C]. Dieselben Buchstaben indizieren, dass innerhalb einer Getränkegruppe keine statistisch signifikanten Unterschiede auftraten bei veränderter Temperatur.

Mittellinie: Median; Box: Interquartilsabstand; Whiskers: 1.5-fache interquartilsabstand oder Minimal-/Maximalwert der Verteilung, falls ausserhalb des 1.5-fachen Interquartilsabstands.

### 4.3 Coca-Cola Zero

Mit Erhöhung der Temperatur von 5 °C auf 20 °C konnte keine signifikante Steigerung des Zahnhartsubstanzabtrages festgestellt werden ( $p = 0.236$ , ANOVA).

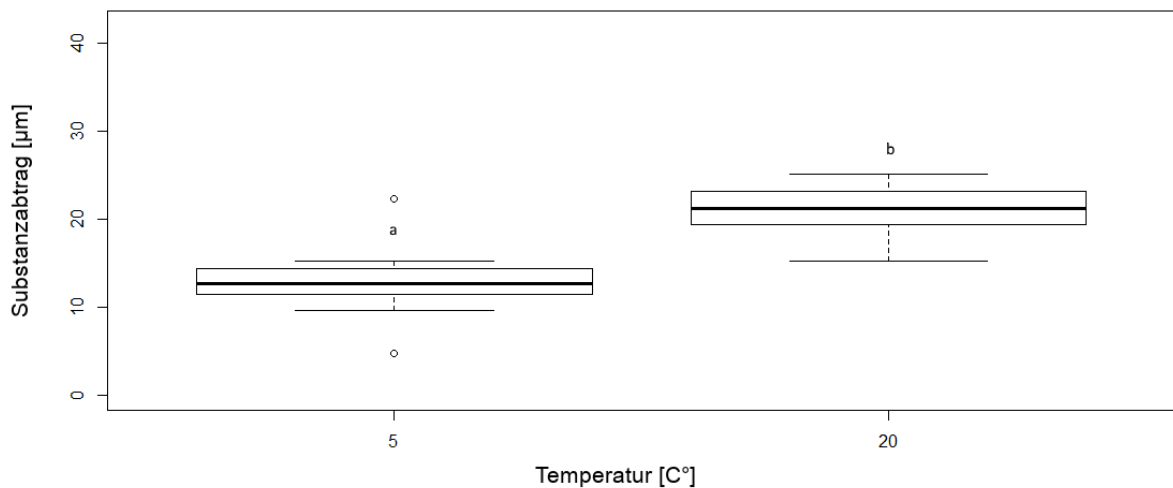


**Abbildung 7:** Temperaturabhängige Erosion bei Coca-Cola Zero. Boxplotdarstellung des durch Coca-Cola Zero hervorgerufenen Zahnhartsubstanzverlusts [µm] bei den getesteten Temperaturen [°C]. Dieselben Buchstaben indizieren, dass innerhalb einer Getränkegruppe keine statistisch signifikanten Unterschiede auftraten bei veränderter Temperatur.

Mittellinie: Median; Box: Interquartilsabstand; Whiskers: 1.5-fache interquartilsabstand oder Minimal-/Maximalwert der Verteilung, falls ausserhalb des 1.5-fachen Interquartilsabstands.

#### 4.4 Sprite Zero

Es konnte deutlich gesehen werden, dass bei einer Temperaturerhöhung von 5 °C auf 20 °C mehr Zahnhartsubstanz durch Sprite Zero abgetragen wurde. Der Temperatureffekt war signifikant ( $p < 0.001$ , ANOVA).

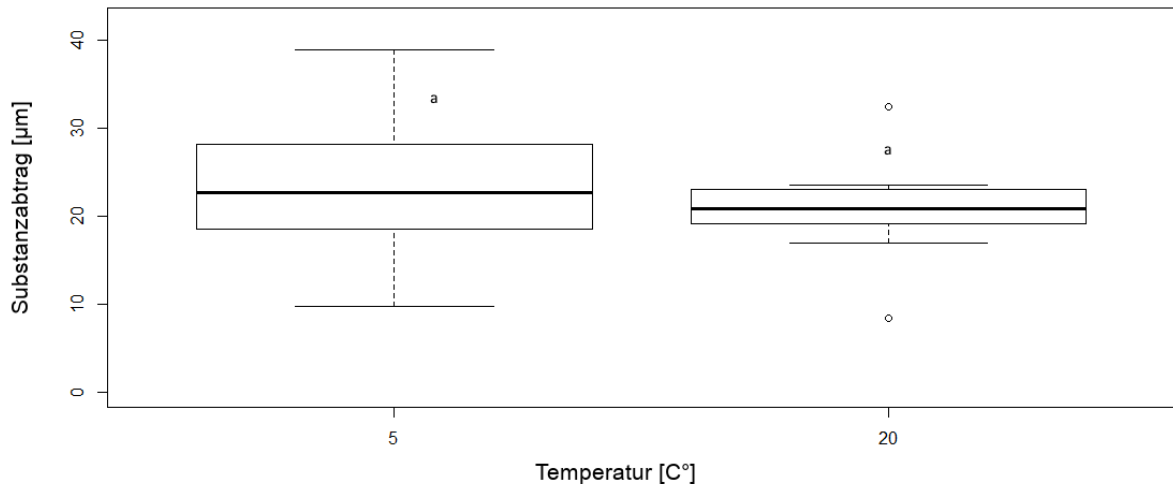


**Abbildung 8:** Temperaturabhängige Erosion bei Sprite Zero. Boxplotdarstellung des durch Sprite Zero hervorgerufenen Zahnhartsubstanzverlusts [µm] bei den getesteten Temperaturen [°C]. Unterschiedliche Buchstaben indizieren, dass innerhalb einer Getränkegruppe ein statistisch signifikanter Unterschied auftrat bei veränderter Temperatur.

Mittellinie: Median; Box: Interquartilsabstand; Whiskers: 1.5-fache interquartilsabstand oder Minimal-/Maximalwert der Verteilung, falls ausserhalb des 1.5-fachen interquartilsabstands.

## 4.5 Orangensaft

Es wurde kein signifikanter Temperatureffekt bei Orangensaft festgestellt bei Erhöhung der Temperatur von 5 °C auf 20 °C ( $p = 0.338$ , ANOVA).

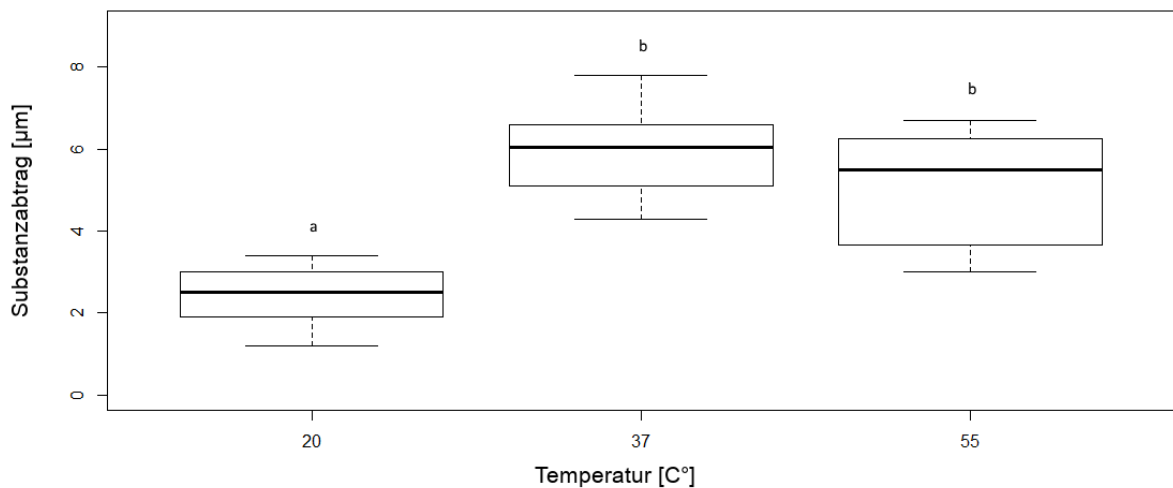


**Abbildung 9:** Temperaturabhängige Erosion bei Orangensaft. Boxplotdarstellung des durch Orangensaft hervorgerufenen Zahnhartsubstanzverlusts [ $\mu\text{m}$ ] bei den getesteten Temperaturen [ $^{\circ}\text{C}$ ]. Dieselben Buchstaben indizieren, dass innerhalb einer Getränkegruppe keine statistisch signifikanten Unterschiede auftraten bei veränderter Temperatur. Unterschiedliche Buchstaben indizieren, dass innerhalb einer Getränkegruppe ein statistisch signifikanter Unterschied auftrat bei veränderter Temperatur.

Mittellinie: Median; Box: Interquartilsabstand; Whiskers: 1.5-fache interquartilsabstand oder Minimal-/Maximalwert der Verteilung, falls ausserhalb des 1.5-fachen Interquartilsabstands.

## 4.6 Twinings Früchtetee

Die Steigerung des Substanzabtrages wurde als signifikant betrachtet bei einer Temperaturerhöhung von 20 °C auf 37 °C sowie von 20 °C auf 55 °C. Nicht signifikant hingegen war die Temperaturerhöhung von 37 °C auf 55 °C.

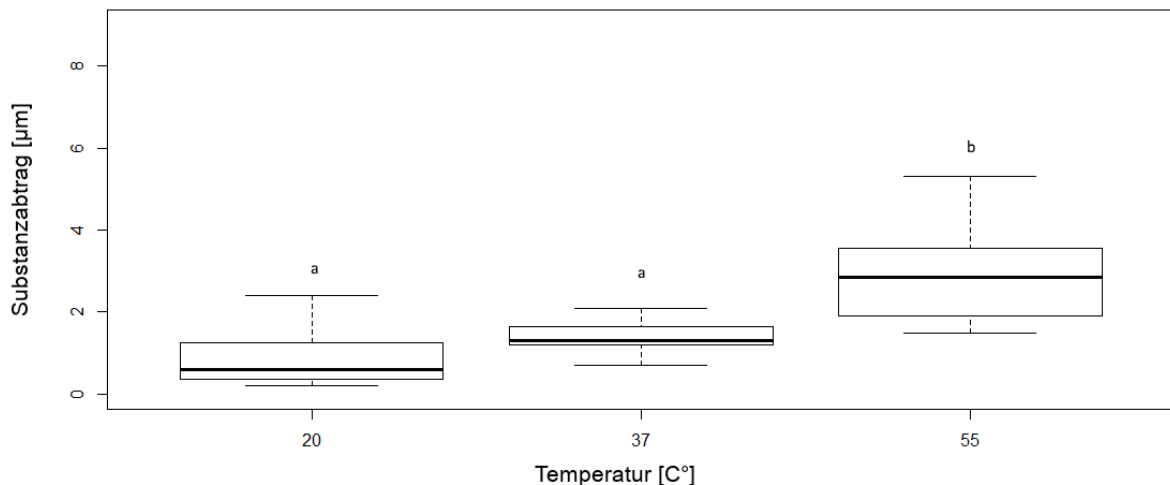


**Abbildung 10:** Temperaturabhängige Erosion bei Twinings Früchte-Tee. Boxplotdarstellung des durch Twinings Früchte-Tee hervorgerufenen Zahnhartsubstanzverlusts [µm] bei den getesteten Temperaturen [°C]. Unterschiedliche Buchstaben indizieren, dass innerhalb einer Getränkegruppe ein statistisch signifikanter Unterschied auftrat bei veränderter Temperatur.

Mittellinie: Median; Box: Interquartilsabstand; Whiskers: 1.5-fache interquartilsabstand oder Minimal-/Maximalwert der Verteilung, falls ausserhalb des 1.5-fachen Interquartilsabstands.

#### 4.7 Lipton fruit tea Strawberry, Raspberry & Rhubarb

Anders als beim Früchte-Tee der Marke Twinings, lag beim Früchte-Tee der Marke Lipton das Erosionsmaximum bei 55 °C. Der Temperatureffekt von 20 °C auf 37 °C war nicht signifikant. Allerdings war die Erhöhung von 20 °C auf 55 °C und die Temperaturveränderung von 37 °C auf 55 °C signifikant.



**Abbildung 11:** Temperaturabhängige Erosion bei Lipton. Boxplotdarstellung des durch Lipton Früchtetee hervorgerufenen Zahnhartsubstanzverlusts [µm] bei den getesteten Temperaturen [°C]. Unterschiedliche Buchstaben indizieren, dass innerhalb einer Getränkegruppe ein statistisch signifikanter Unterschied auftrat bei veränderter Temperatur.

Mittellinie: Median; Box: Interquartilsabstand; Whiskers: 1.5-fache interquartilsabstand oder Minimal-/Maximalwert der Verteilung, falls ausserhalb des 1.5-fachen Interquartilsabstands.



## 5 Diskussion

### 5.1 Diskussion der Methodik

Für diese In-vitro-Studie wurde eine völlig neue Eigenkonstruktion zur Simulation der Mundhöhlenbedingungen während des Trinkens von Flüssigkeiten von der Klinik für Präventivzahnmedizin, Parodontologie und Kariologie hergestellt. Anders als in bisherigen Erosionsstudien konnten 12 Schmelzproben gleichzeitig erodiert werden. Durch die programmierten Ventile wurde es möglich, einen realitätsnahen Versuchsablauf mit Trink- und Remineralisationsphasen zu simulieren. Ein Unterschied zum Erosionsablauf in vivo könnte darin liegen, dass im künstlichen Mund der Speichel zwar durchgehend über die Proben fließt, allerdings beim eigentlichen Erosionsprozess fehlt. Das bedeutet, dass das getestete Getränk im künstlichen Mund unverdünnt über die Proben fließt, während in vivo die aufgenommene Säure durch den ständig vorhandenen Speichel verdünnt wird. Geht man nun aber davon aus, dass die stimulierte Speichelflussrate bei zirka 2 ml/min liegt (1) und bei einem Schluck ungefähr 10-20 ml des Getränks in 5 s durch die Mundhöhle fließt, ist die Verdünnung des Speichels vernachlässigbar. Ebenfalls sind die Daten der vorliegenden Studie schwierig mit In-vivo-Studien zu vergleichen, da es intraoral noch andere Faktoren gibt, welche in dieser Studie nicht berücksichtigt werden konnten. Zum Beispiel hat die Art der Aufnahme eines Getränkes einen Einfluss auf den intraoralen pH-Wert, variiert jedoch auch nach Ort der Messstelle (50).

Ein weiterer Unterschied zwischen In-vitro- und In-vivo-Studien besteht in der Bildung bzw. dem Fehlen der Pellikel. Um die Schläuche des künstlichen Mundes möglichst nicht zu verstopfen wurde in der vorliegenden Studie auf Muzine oder Lipide im künstlichen Speichel verzichtet. In vivo wird jedoch durch den Speichelkontakt eine Pellikel auf der Schmelzoberfläche hergestellt (16). Die Pellikel schützt die Oberfläche vor angreifenden Säure-Ionen (17, 18, 51). Somit fehlt in dieser In-vitro-Studie ein wesentlich schützender Faktor.

Ungeplante Temperaturschwankungen oder -veränderungen könnten die Ergebnisse beeinflusst haben. Die Proben wurden zwar ständig bei 37 °C gehalten, allerdings wurde der künstliche Speichel bei Raumtemperatur gelagert, und die temperierte Säure könnte sich auf dem Weg durch die Schläuche zur Probe wieder etwas abgekühlt haben. Dem entgegnete man mit einem 10-Minuten-Vorlauf, bei welchem das Schlauchsystem und

die Pumpen auf die gewünschte Temperatur gebracht wurden. Somit entstanden keine Schwankungen oder Streuungen, womit sich diese Veränderungen in einem zu vernachlässigbaren Ausmass gehalten haben sollten. In einer Studie von Airoidi und Mitarbeitern konnte gezeigt werden, dass sich intraoral die Temperaturveränderung nach einem Maximum/Minimum exponentiell an die intraorale Temperatur von zirka 37 °C angleicht (52). Ebenfalls ist die gemessene Temperatur wieder abhängig vom Ort der Messstelle, so gab es zum Beispiel im Unterkiefer eine grössere Temperaturveränderung als im Oberkiefer (52).

Eine weitere Limitation der vorliegenden Studie besteht in der Verwendung von bovinem Schmelzmaterial. Es wurde gezeigt, dass sich die Zusammensetzung von humanem und bovinem Schmelz unterscheidet (53). Boviner Schmelz ist poröser und weicher als der Zahnschmelz von Menschen (53). Durch die unterschiedliche Beschaffenheit des Zahnschmelzes kann nach Säureexposition bei bovinem Schmelz mehr Mineralverlust, als bei humanem Schmelz festgestellt werden (54-56). Es gibt jedoch genügend Gründe, die für die Verwendung von bovinem Schmelz sprechen. Zum einen ist die Verfügbarkeit von Rinderzähnen grösser und somit die Beschaffung einfacher. Unter der Beachtung, dass der Zahnschmelzabtrag bei bovinen Zahnproben schneller abläuft als bei humanen, können Rinderzähne in Studien als Ersatz für menschliche Zahnproben dienen (56).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sind schwierig mit anderen Studien zu vergleichen. Einerseits existieren verschiedene Methoden zur Ermittlung von erosivem Zahnhartsubstanzverlust, die nicht komplett vergleichbar sind, andererseits ist der Studienaufbau unterschiedlich. In dieser Studie wurden die Proben mittels Kontaktprofilometrie vermessen. Dieses Verfahren wurde zwar auch in anderen Studien verwendet (57, 58), jedoch war dort die Applikation der Säure anders. In den meisten Studien wurden die Proben für eine bestimmte Zeit in die zu untersuchenden Säuren getaucht, während in der vorliegenden Studie die Säure über die Proben geflossen ist. Es konnte gezeigt werden, dass es einen Einfluss hat, ob die Säure bewegt wird, das heisst, in einer bewegten Säurelösung kommt es im Vergleich mit einer unbewegten Säurelösung zu mehr Demineralisation (59). Das Ausmass der Erosion wird auch durch die Fliessgeschwindigkeit beeinflusst, jedoch ist die Schmelzdemineralisation bei einem laminaren Fliessverhalten einer Lösung sehr komplex und folgt keinem klaren Modell (60).

## 5.2 Diskussion der Ergebnisse

Entgegen der Erwartungen hatte die Temperatur nur einen geringen Einfluss auf die Erosivität der Getränke. So konnte man zwar bei den meisten Getränken einen minimalen Anstieg des Zahnhartsubstanzabtrages bei erhöhter Temperatur feststellen, jedoch ist die Temperaturabhängigkeit bei den wenigsten untersuchten Flüssigkeiten als signifikant zu werten. Ein ähnliches Ergebnis konnte in der Studie von West und Mitarbeitern gefunden werden (45). Hier wurde die Hypothese aufgestellt, dass sich der Zahnhartsubstanzabtrag pro 10 °C Temperaturerhöhung verdoppeln müsste, jedoch konnte ebenfalls nur ein geringerer Substanzverlust als angenommen festgestellt werden (45).

In Tabelle 4 sind die gemessenen pH-Werte bei den verschiedenen Temperaturen aufgeführt. Die pH-Werte haben sich mit Erhöhung der Temperatur nicht nennenswert verändert. Somit kann ausgeschlossen werden, dass nur der pH-Wert für die gesteigerte Erosivität bei erhöhter Temperatur verantwortlich ist.

Aus Tabelle 4 kann entnommen werden, dass reine Zitronensäure bei 20 °C mit Abstand am meisten Zahnhartsubstanz abgetragen hat. Direkt dahinter lagen Sprite Zero mit 21 µm und Orangensaft von Granini mit 20.9 µm. Der hohe Substanzabtrag kann mit der Art der Säure zusammenhängen. Zitronensäure ist bei diesen drei Getränken die Hauptsäure. Es ist schon länger bekannt, dass Zitronensäure einen stark erosiven Effekt hat, daher wird diese häufig in Erosionsstudien angewendet (34, 61-63).

In früheren Studien wurde gezeigt, dass Kalzium einen Erosions-inhibitor darstellt (62, 64-66). Diese Beobachtung hat sich in der vorliegenden Arbeit bestätigt. In Tabelle 4 und Abbildung 5 wird verdeutlicht, dass die Kalziumkonzentration der untersuchten Getränke einen wichtigen Einfluss auf deren Erosivität hatte. So enthält beispielsweise die hoch erosive Zitronensäure kein Kalzium. Sprite Zero, welches ebenfalls zu starkem Substanzverlust führte, enthält ebenfalls nur wenig Kalzium-Ionen. Der Einfluss von Kalzium ist auch beim Vergleich der erosiven Wirkung von Zitronensäure und Coca-Cola Zero zu beobachten. Beide Flüssigkeiten haben einen ähnlichen pH-Wert von ungefähr 2.70, unterscheiden sich jedoch in ihrem Ca-Gehalt. Coca-Cola Zero hat 0.19 mmol/l mehr Kalzium als Zitronensäure, und zeigt bei 20 °C dementsprechend deutlich weniger Zahnhartsubstanzabtrag. Zu dieser Beobachtung passt auch die Tatsache, dass der durch die beiden untersuchten Früchtetees der Marken Lipton und Twinings verursachte

Zahnhartsubstanzabtrag auch bei einer Temperatur von 55 °C sehr gering ausfiel. Dies könnte am hohen Kalzium- und Phosphatgehalt des Zürcher Leitungswassers liegen, mit welchem die Tees zubereitet wurden. Würde man den Tee mit Leitungswasser anderer Herkunft, bzw. mit einem geringeren Kalzium- und Phosphat-Gehalt aufbrühen, könnten die Resultate durchaus von den vorliegenden abweichen.

Im Vergleich zu Sprite Zero und Zitronensäure hat Orangensaft einen höheren Ca-Gehalt sowie auch einen höheren pH-Wert. Trotz dieser Tatsachen führte die Behandlung mit Orangensaft zu einem zumindest ähnlich hohen Substanzabtrag. Eine Studie von Azadi-Schossig und Mitarbeitern zeigte, dass die Chelation von Ca-Ionen durch Citrat in einem fließenden System wie in unserer Studie, keinen relevanten Einfluss auf den Schmelzabtrag hat (34). Abgesehen von dieser Tatsache wird der verwendete Orangensaft von Granini aus Konzentrat hergestellt, das heisst, es wird ihm Wasser mit einem der Herkunft entsprechenden Ca-Gehalt hinzugefügt. Die Ergebnisse könnten daher mit einem reinen Orangensaft anders ausfallen.

In der vorliegenden Studie verhielten sich Coca-Cola Zero und Sprite Zero bei 20 °C bezüglich Zahnhartsubstanzabtrag ähnlich. Dies könnte auf den vergleichbaren Gehalt von Kalzium zurückzuführen sein. Allerdings ist bei Coca-Cola Zero der Zahnhartsubstanzabtrag bei 5 °C deutlich höher als bei Sprite Zero. Der Temperatureffekt jedoch ist bei Sprite Zero signifikant, während er es bei Coca-Cola Zero nicht ist. Diese unterschiedliche Wirkung könnte an den verschiedenen Hauptsäuren der Getränke liegen.

Die getesteten Getränke verhielten sich in Bezug auf die titrierbare Säure unterschiedlich. Das bedeutet jedes Getränk verhält sich beim Nachliefern von Protonen, der eigentlichen Ursache für Erosionen während des Erosionsprozess anders.

Das Ausmass des Zahnhartsubstanzabtrags durch ein zitronensäurehaltiges Getränk kann anhand der initialen Protonenaktivität ungefähr abgeschätzt werden (34). Jedoch können bei Getränken mit unterschiedlichen Säuren und Zusammensetzungen keine genauen Voraussagen getroffen werden. Es wurde in der Studie von Azadi-Schossig und Mitarbeitern auch keine lineare Abhängigkeit des pH-Wertes, der Pufferkapazität und der titrierbaren Säure in Bezug auf den Zahnhartsubstanzabtrag festgestellt (34). Es bleibt daher schwierig die in der vorliegenden Studie untersuchten Getränke direkt miteinander zu vergleichen, da sie sich in Zusammensetzung und dem Säuregehalt massgeblich unterscheiden.

## Zusammenfassung

Schlussfolgernd kann festgehalten werden, dass die untersuchten säurehaltigen Getränke eine verschieden starke Erosivität aufweisen. Es konnte eine unterschiedlich stark ausgeprägte Steigerung des Substanzabtrages bei erhöhter Temperatur festgestellt werden. Dieser beobachtete Temperatureffekt war jedoch bei den untersuchten Getränken zu verschieden, um eine generelle Vorsicht bei warmen Getränken zu gebieten.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung. 5., überarb. und erw. Auflage. Köln: Deutscher Zahnärzte Verlag; 2009. 635.
2. Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. *Eur J Oral Sci.* 1996;104:151-5.
3. Kanzow P, Wegehaupt FJ, Attin T, Wiegand A. Etiology and pathogenesis of dental erosion. *Quintessence Int.* 2016;47:275-8.
4. ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion, summary. *Eur J Oral Sci.* 1996;104:241-4.
5. Wegehaupt FJ, Lunghi N, Hogger VM, Attin T. Erosive potential of vitamin and vitamin+mineral effervescent tablets. *Swiss Dent J.* 2016;126:457-65.
6. Moazzez R, Bartlett D. Intrinsic causes of erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:180-96.
7. Ganss C, Lussi A. Diagnosis of erosive tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:22-31.
8. Vieira A, Overweg E, Ruben JL, Huysmans MC. Toothbrush abrasion, simulated tongue friction and attrition of eroded bovine enamel in vitro. *J Dent.* 2006;34:336-42.
9. Shellis RP, Addy M. The interactions between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:32-45.
10. Eccles JD. Dental erosion of nonindustrial origin. A clinical survey and classification. *J Prosthet Dent.* 1979;42:649-53.
11. Bartlett D, Ganss C, Lussi A. Basic Erosive Wear Examination (BEWE): a new scoring system for scientific and clinical needs. *Clin Oral Investig.* 2008;12:65-8.
12. Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:55-73.
13. Ganss C, Klimek J, Giese K. Dental erosion in children and adolescents - a cross-sectional and longitudinal investigation using study models. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2001;29:264-71.
14. Ganss C, Schulze K, Schlueter N. Toothpaste and erosion. *Monogr Oral Sci.* 2013;23:88-99.
15. Shellis RP, Featherstone JD, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:163-79.
16. Nieuw Amerongen AV, Oderkerk CH, Driessen AA. Role of mucins from human whole saliva in the protection of tooth enamel against demineralization in vitro. *Caries Res.* 1987;21:297-309.
17. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A. Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. *J Dent Res.* 1999;78:1821-8.

18. Hannig M, Balz M. Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res.* 1999;33:372-9.
19. Shellis RP, Barbour ME, Jesani A, Lussi A. Effects of buffering properties and undissociated acid concentration on dissolution of dental enamel in relation to pH and acid type. *Caries Res.* 2013;47:601-11.
20. Imfeld T. Prevention of progression of dental erosion by professional and individual prophylactic measures. *Eur J Oral Sci.* 1996;104:215-20.
21. Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion - an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res.* 2011;45:2-12.
22. Shellis RP, Finke M, Eisenburger M, Parker DM, Addy M. Relationship between enamel erosion and liquid flow rate. *Eur J Oral Sci.* 2005;113:232-8.
23. Eisenburger M, Shellis RP, Addy M. Comparative study of wear of enamel induced by alternating and simultaneous combinations of abrasion and erosion in vitro. *Caries Res.* 2003;37:450-5.
24. Wiegand A, Wegehaupt F, Werner C, Attin T. Susceptibility of acid-softened enamel to mechanical wear - ultrasonication versus toothbrushing abrasion. *Caries Res.* 2007;41:56-60.
25. Attin T, Buchalla W, Gollner M, Hellwig E. Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. *Caries Res.* 2000;34:48-52.
26. Attin T, Knofel S, Buchalla W, Tutuncu R. In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. *Caries Res.* 2001;35:216-22.
27. Engelen L, de Wijk RA, Prinz JF, van der Bilt A, Bosman F. The relation between saliva flow after different stimulations and the perception of flavor and texture attributes in custard desserts. *Physiol Behav.* 2003;78:165-9.
28. Hara AT, Zero DT. The potential of saliva in protecting against dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:197-205.
29. Dehghan M, Tantbirojn D, Kymer-Davis E, Stewart CW, Zhang YH, Versluis A, et al. Neutralizing salivary pH by mouthwashes after an acidic challenge. *J Investig Clin Dent.* 2015;8:e12198.
30. Johansson AK, Lingstrom P, Birkhed D. Comparison of factors potentially related to the occurrence of dental erosion in high- and low-erosion groups. *Eur J Oral Sci.* 2002;110:204-11.
31. Edwards M, Ashwood RA, Littlewood SJ, Brocklebank LM, Fung DE. A videofluoroscopic comparison of straw and cup drinking: the potential influence on dental erosion. *Br Dent J.* 1998;185:244-9.
32. Eisenburger M, Addy M. Influence of liquid temperature and flow rate on enamel erosion and surface softening. *J Oral Rehabil.* 2003;30:1076-80.

33. Asmyhr O, Grytten J, Holst D. Occurrence of risk factors for dental erosion in the population of young adults in Norway. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2012;40:425-31.
34. Azadi-Schossig P, Becker K, Attin T. Chelating effect of citric acid is negligible for development of enamel erosions. *Clin Oral Investig.* 2016;20:1577-87.
35. Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004;38:34-44.
36. Lussi A, Carvalho TS. Erosive tooth wear: a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:1-15.
37. Barbour ME, Finke M, Parker DM, Hughes JA, Allen GC, Addy M. The relationship between enamel softening and erosion caused by soft drinks at a range of temperatures. *J Dent.* 2006;34:207-13.
38. Venables MC, Shaw L, Jeukendrup AE, Roedig-Penman A, Finke M, Newcombe RG, et al. Erosive effect of a new sports drink on dental enamel during exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2005;37:39-44.
39. Attin T, Weiss K, Becker K, Buchalla W, Wiegand A. Impact of modified acidic soft drinks on enamel erosion. *Oral Dis.* 2005;11:7-12.
40. Attin T, Wegehaupt FJ. Methods for assessment of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:123-42.
41. Whitehead SA, Shearer AC, Watts DC, Wilson NH. Comparison of two stylus methods for measuring surface texture. *Dent Mater.* 1999;15:79-86.
42. Barbour ME, Lussi A. Erosion in relation to nutrition and the environment. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:143-54.
43. Larsen MJ, Nyvad B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. *Caries Res.* 1999;33:81-7.
44. Barbour ME, Parker DM, Allen GC, Jandt KD. Enamel dissolution in citric acid as a function of calcium and phosphate concentrations and degree of saturation with respect to hydroxyapatite. *Eur J Oral Sci.* 2003;111:428-33.
45. West NX, Hughes JA, Addy M. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. *J Oral Rehabil.* 2000;27:875-80.
46. Lussi A, Carvalho TS. Analyses of the erosive effect of dietary substances and medications on deciduous teeth. *PLOS One.* 2015;10:e0143957.
47. Sloane NH, York JL. *Biochemisches Arbeitsbuch.* Berlin etc.: Springer; 1972. VIII, 278.
48. Bruhn HD. *LaborMedizin Indikationen, Methodik und Laborwerte, Pathophysiologie und Klinik.* 3. Aufl. ed. Stuttgart: Schattauer; 2011. 522.
49. Team RC. *A language and environment for statistical computing.*: R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich; 2015.



50. Johansson AK, Lingstrom P, Imfeld T, Birkhed D. Influence of drinking method on tooth-surface pH in relation to dental erosion. *Eur J Oral Sci.* 2004;112:484-9.
51. Carvalho TS, Baumann T, Lussi A. In vitro salivary pellicles from adults and children have different protective effects against erosion. *Clin Oral Investig.* 2016;20:1973-9.
52. Airoidi G, Riva G, Vanelli M, Filippi V, Garattini G. Oral environment temperature changes induced by cold/hot liquid intake. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1997;112:58-63.
53. Arends J, Christoffersen J, Ruben J, Jongebloed WL. Remineralization of bovine dentine in vitro. The influence of the F content in solution on mineral distribution. *Caries Res.* 1989;23:309-14.
54. Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res.* 1981;15:109-14.
55. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J Oral Rehabil.* 1999;26:624-30.
56. White AJ, Yorath C, ten Hengel V, Leary SD, Huysmans MC, Barbour ME. Human and bovine enamel erosion under 'single-drink' conditions. *Eur J Oral Sci.* 2010;118:604-9.
57. Avila DM, Zanatta RF, Scaramucci T, Aoki IV, Torres CR, Borges AB. Influence of bioadhesive polymers on the protective effect of fluoride against erosion. *J Dent.* 2017;56:45-52.
58. de Melo MA, Passos VF, Lima JP, Santiago SL, Rodrigues LK. Carbohydrate-electrolyte drinks exhibit risks for human enamel surface loss. *Restor Dent Endod.* 2016;41:246-54.
59. Maupome G, Aguilar-Avila M, Medrano-Ugalde H, Borges-Yanez A. In vitro quantitative microhardness assessment of enamel with early salivary pellicles after exposure to an eroding cola drink. *Caries Res.* 1999;33:140-7.
60. Attin T, Becker K, Wiegand A, Taubock TT, Wegehaupt FJ. Impact of laminar flow velocity of different acids on enamel calcium loss. *Clin Oral Investig.* 2013;17:595-600.
61. Wang X, Klocke A, Mihailova B, Tosheva L, Bismayer U. New insights into structural alteration of enamel apatite induced by citric acid and sodium fluoride solutions. *J Phys Chem B.* 2008;112:8840-8.
62. Hughes JA, West NX, Parker DM, van den Braak MH, Addy M. Effects of pH and concentration of citric, malic and lactic acids on enamel, in vitro. *J Dent.* 2000;28:147-52.
63. Eisenburger M, Shellis RP, Addy M. Scanning electron microscopy of softened enamel. *Caries Res.* 2004;38:67-74.
64. Ostrowska A, Szymanski W, Kolodziejczyk L, Boltacz-Rzepkowska E. Evaluation of the erosive potential of selected isotonic drinks: In vitro studies. *Adv Clin Exp Med.* 2016;25:1313-9.

65. Davis RE, Marshall TA, Qian F, Warren JJ, Wefel JS. In vitro protection against dental erosion afforded by commercially available, calcium-fortified 100 percent juices. J Am Dent Assoc. 2007;138:1593-8; quiz 615.
66. Wang YL, Chang CC, Chi CW, Chang HH, Chiang YC, Chuang YC, et al. Erosive potential of soft drinks on human enamel: an in vitro study. J Formos Med Assoc. 2014;113:850-6.